

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02003/075686

発行日 平成17年6月30日(2005. 6. 30)

(43) 国際公開日 平成15年9月18日(2003. 9. 18)

(51) Int. Cl.⁷

F1

A61K 35/78

A61K 35/78

X

A23L 1/30

A61K 35/78

C

A23L 2/52

A23L 1/30

B

A61K 9/08

A61K 9/08

A61K 9/10

A61K 9/10

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 16 頁) 最終頁に続く

出願番号 特願2003-573970 (P2003-573970)
 (21) 国際出願番号 PCT/JP2003/002850
 (22) 国際出願日 平成15年3月11日(2003. 3. 11)
 (31) 優先権主張番号 特願2002-112687 (P2002-112687)
 (32) 優先日 平成14年3月11日(2002. 3. 11)
 (33) 優先権主張国 日本国(JP)
 (31) 優先権主張番号 特願2002-309152 (P2002-309152)
 (32) 優先日 平成14年10月24日(2002. 10. 24)
 (33) 優先権主張国 日本国(JP)
 (81) 指定国 EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), AU, CA, CN, JP, KR, SG, US

(71) 出願人 000001904
 サントリー株式会社
 大阪府大阪市北区堂島浜2丁目1番40号
 (74) 代理人 100089705
 弁理士 社本 一夫
 (74) 代理人 100076691
 弁理士 増井 忠次
 (74) 代理人 100075270
 弁理士 小林 泰
 (74) 代理人 100080137
 弁理士 千葉 昭男
 (74) 代理人 100096013
 弁理士 富田 博行
 (74) 代理人 100118902
 弁理士 山本 修

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 SDGの製法およびその配合飲食物

(57) 【要約】

本発明は、女性ホルモン様活性を有するエンテロラクトン、およびエンテロジオールなどの前駆体となることが知られているSDG（セコイソラリシネシロール ジグリコシド）を製造するための方法、および、SDGを配合することにより製造可能となる、女性ホルモンの乱れからくる諸症状、たとえば更年期障害、骨粗鬆症、高脂血症、高血圧症、肥満、鬱、ほてりなどに有効な食品および飲料を提供するものである。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

セコイソラリシネシロール ジグリコシド (SDG) 含有植物素材を塩基性アルコールで抽出することを特徴とする SDG 高含有物の製造法。

【請求項 2】

SDG 含有植物素材が亜麻種子である、請求項 1 に記載の SDG 高含有物の製造法。

【請求項 3】

亜麻種子が脱脂亜麻粕である請求項 2 の SDG 高含有物の製造法。

【請求項 4】

アルコール濃度が 30 から 100% (v/v) である請求項 1 から 3 のいずれか 1 項に記載の SDG 含有組成物の製造法。 10

【請求項 5】

塩基性アルコールが 0.05 から 2N のアルカリを含むアルコールである請求項 1 から 4 のいずれか 1 項に記載の SDG 含有組成物の製造法。

【請求項 6】

請求項 1 から 5 のいずれか 1 項に記載された製造法により製造された SDG 高含有物。

【請求項 7】

請求項 6 に記載された SDG 高含有物からなる飲食物素材。

【請求項 8】

請求項 7 に記載された飲食物素材を含有する飲食物。 20

【請求項 9】

SDG を 1 日の摂取量として 1 ~ 1000 mg 含有する、請求項 8 に記載の飲食物。

【請求項 10】

SDG を重量当たり 0.001 ~ 90 重量% 含有する、請求項 8 に記載の飲食物。

【請求項 11】

SDG を 1 日の摂取量として 10 ~ 90 mg 含有する形態にある請求項 8 に記載の飲食物。

【請求項 12】

SDG およびイソフラボン類を含有する飲食物。

【請求項 13】

SDG を 1 日の摂取量として 1 ~ 1000 mg 含有する、請求項 12 に記載の飲食物。 30

【請求項 14】

SDG を重量当たり 0.001 ~ 90 重量% 含有する、請求項 12 に記載の飲食物。

【請求項 15】

SDG を 1 日の摂取量として 10 ~ 90 mg 含有する形態にある請求項 12 に記載の飲食物。

【請求項 16】

イソフラボン類を 1 日当たり 10 ~ 90 mg 摂取できる形態にある、請求項 12 に記載の飲食物。

【請求項 17】

SDG が天然物から抽出されたものである、請求項 12 から 16 のいずれか 1 項に記載の飲食物。 40

【請求項 18】

該天然物が SDG 含有植物素材である、請求項 17 に記載の飲食物。

【請求項 19】

該 SDG 含有植物素材が亜麻種子である、請求項 18 に記載の飲食物。

【請求項 20】

女性ホルモンの乱れからくる諸症状の予防および／または改善効果を有する、請求項 8 から 19 のいずれか 1 項に記載の飲食物。

【請求項 21】

更年期障害の症状の予防および／または改善効果を有する、請求項 8 から 19 のいずれか 1 項に記載の飲食物。

【請求項 22】

骨粗鬆症、高脂血症、高血圧症、肥満、鬱、ほてりのうち選ばれた 1 つ以上の症状の予防および／または改善効果を有する、請求項 8 から 19 のいずれか 1 項に記載の飲食物。

【請求項 23】

該飲食物が、パン、ビスケットなどの焼き菓子、ジュース、無糖茶などの飲料、酒類、スープ、飴、ガム、ヨーグルト、アイスクリーム、プディング、ゼリーから選ばれたものである、請求項 8 から 19 のいずれか 1 項に記載の飲食物。

【請求項 24】

該飲食物が、粉末、顆粒、タブレット、ソフトカプセル、ハードカプセル、内服液、シロップより選ばれた加工形態である、請求項 8 から 19 のいずれか 1 項に記載の飲食物。

【発明の詳細な説明】

技術分野

本発明は、女性ホルモン様活性を有するエンテロラクトン、およびエンテロジオールなどの前駆体となることが知られており、リグナン化合物の一つである SDG (セコイソラリシネシロール ジグリコシド、図 1 参照) を製造するための方法、および、SDG を配合することにより製造可能となる、女性ホルモンの乱れからくる諸症状、たとえば更年期障害、骨粗鬆症、高脂血症、肥満、鬱などに有効な食品および飲料に関するものである。

背景技術

更年期障害は、閉経期を迎えエストロゲンが低下することによるホルモンバランスの乱れを原因とする諸症状と考えられ、閉経期までの数年間継続する症状である。更年期に特徴的な症状としては、鬱、ほてり、などが知られている。また、更年期を過ぎると、閉経が訪れるが、これに伴う症状として、骨粗鬆症、高脂血症、高血圧症、肥満、鬱、などが挙げられる。

いずれも健康維持に大きな影響を与えるものであることから、適切な対処法が望まれている。治療法としては、対症療法として、骨粗鬆症、高脂血症、高血圧症、肥満、鬱に対する個別の治療法が選択される場合もあるが、これらに有効とされているのが HRT すなわちホルモン療法である。症状が複数あっても、女性ホルモンをとることで劇的な改善が得られる場合も多い。

しかし、この HRT には、乳がん、子宮ガンなどの発ガン性のリスクがあることと、擬似生理による出血などの問題もある。発ガン性に関しては、プロゲステロンとの併用によりほぼ解消されたと考えられているが、発ガン性のイメージは根強く、かつ出血の問題などを併せて、HRT に踏み切る例は、期待効果の大きさほどには多くないと言える。

HRT に匹敵する効能が食品で得られれば、大きなメリットを産み出すことは容易に想像できる。こうした中、近年、日本はもとより米国でも注目を集めているのが植物エストロゲンである。

植物エストロゲンの代表は、大豆イソフラボンであり、最近注目を集めている食品素材である。大豆イソフラボンは、女性ホルモン様作用を示す成分として知られていることから、女性ホルモンの乱れからくる諸症状、たとえば更年期障害、骨粗鬆症、高脂血症、肥満、鬱などに有効となる知見が数多く得られている。大豆胚芽抽出物に含まれる大豆イソフラボンは、ゲニステイン (Genistein)、ダイゼイン (Daidzein) およびグリシテイン (Glycitin) などの総称であり、ほとんどが配糖体として存在し、腸内微生物によってアグリコン化され、吸収されるものと考えられている。

大豆イソフラボンは構造的にエストロゲンと共通な性質を有することから、エストロゲン受容体に結合することが予想されるが、実際、エストロゲン受容体 ER β に選択性をもって結合することが報告されている (Endocrinology 139, 4252 (1998))。

植物エストロゲンは、古くからその存在は知られており、牛の乳の出を良くするなどの効能のほか、大量摂取により不妊となることも知られている。このことから、その使用には

10

20

30

40

50

十分な注意が必要となる。ヒトにおける安全性を重視した場合、食経験に基づく安全性が最も重要と考えられる。

日本人は、米国人に比べて子宮ガン、乳がん、および男性の前立腺ガンの発症率が極めて低いと同時に、更年期症状も軽いことが知られている（J. Nutrition 125, 757S (1995)）。血中のイソフラボン濃度は、これを説明する大きな根拠となるが、日本人は米国人に比べ、約10倍以上あることが確認されている。さらに、大豆イソフラボンは培養細胞や動物を用いた試験により、乳がん、子宮ガンの増殖を抑制することを始め、閉経モデルである卵巣摘出ラットを用いて、骨吸収過程を抑制することにより骨粗鬆症を改善すること、閉経に伴う高脂血症を改善すること、肥満を抑制すること、などの多くの有効性に関する知見が得られている。

こうした知見により、大豆イソフラボンは更年期を始めとする多くの症状を改善する効果が期待でき、かつ安全性も高い植物エストロゲンであると結論づけてよいものと判断できる。

日本人のイソフラボンの平均摂取量は、1日約20mgと考えられている。積極的にイソフラボンを摂取することが推奨されており、イソフラボン摂取を目的とした食品に関して、(財)日本健康・栄養食品協会では、イソフラボン含有食品と呼ぶイソフラボンを含む食品における摂取目安量を10～90mgとしている。また、特定保健用食品としても骨吸収抑制作用に基づき、厚生労働省により安全で効果がある素材として許可を得るまでに至っている。

このイソフラボン以外にも、多くの植物エストロゲンと呼ばれる成分が知られている。例えば、ホップに含まれるプレニルナリンゲニン、アルファルファに含まれるクメステロール、そして、最近注目を集めているのは亜麻に含まれるリグナン化合物である。

植物エストロゲンの摂取を地域別に分析すると、東洋ではイソフラボンを主に摂取しているのに対し、北欧では、リグナンを主に摂取していることが判明している。両方の地域ともに、乳がんの発症率および更年期症状の重症度が低いことでその他の地域よりも植物エストロゲンの摂取による恩恵を得ていることが統計的にも示されている。

特にホルモンの作用を有するような活性成分は摂取に十分な注意が必要となる中、イソフラボンとリグナンには、疫学的な有用性を示す知見が存在することからも、イソフラボンとリグナンは世界の2大植物エストロゲンとして研究者によって位置付けられている。

亜麻に含まれるリグナン化合物（亜麻リグナン）は腸内細菌に変換されてエンテロラクトン、エンテロジオールなどの女性ホルモン様作用を示す活性成分に変換されることが明らかにされた（Nature 298, 659 (1982)）。ここで注目すべき点は、リグナン含有植物素材の中で特に亜麻種子に含まれるSDGなどのリグナンが活性成分に変換される効率が高いことがトンプソンらの研究によって明らかになったことである（Flax seed in Human Nutrition, Chapter 5 (p82-98), academic press, AOCs Press (1995)）。

このように、亜麻リグナンが注目されているが、亜麻自体は古くは新石器時代より食されている他、古代ギリシャ、ローマ、あるいはエジプト時代から現代に至るまで食用とされつづけている。しかし、亜麻種子のままの摂取においては、殻が硬く摂取しても有効に成分が利用されにくいこと、油の含有率が高く高カロリー食品であること、シアン配糖体が含まれていること、およびビタミンBのアンタゴニストの存在などの問題がある。さらに、亜麻種子の油は不飽和脂肪酸の含量が多いため劣化しやすく、日本では工業用油としての利用がほとんどであり、これまで食用としては注目されていなかった。

わが国では、通常の食生活においては豆製品の摂取から判断してイソフラボンの摂取はある程度高いレベルを保っていると判断できるのに対し、リグナン型の植物エストロゲンに関しては、摂取量が低いことが指摘されている。しかし、亜麻リグナンを高含有する食品はほとんど存在せず、これらを解決した食品素材の開発が望まれていた。

一方、亜麻に含まれるリグナン化合物を食品添加物として利用するという報告がある。特開平11-221048にはイソフラボン、リグナン、サポニン、カテキン、およびフェノール酸を用い、のぼせ、骨粗鬆症、睡眠障害、膣乾燥、月経前症候群を軽減または予防

10

20

30

40

50

する方法が記載されており、リグナン類の例として亜麻リグナンが記載されている。また、特許第306525号には、退色防止剤としてリグナン化合物が開示され、SDGがリグナン化合物の例として記載されている。しかし亜麻リグナンの生理作用については解明されていない。

また、リグナンの製造法に関しては、亜麻種子からのリグナンの抽出法に関する米国特許第5,705,618号がある。該特許には、アルコール抽出後、濃縮して更にアルカリ処理をするという方法が記載されている。また、日本特許第3065925には、亜麻種子からのアルコール抽出物または粗リグナン配糖体濃縮物を酵素処理もしくは酸処理する方法が開示されている。しかし、これらの製法は、工程が複雑でかつコスト面も改善余地を残すものである。また、亜麻種子にはたん白質が多く含有されることが知られているが、これらの方法ではアミノ酸含有量の低いものしか得られない。

10

発明の開示

本発明の目的は、女性ホルモン様活性を有するエンテロラクトン、およびエンテロジオールなどの前駆体となることが知られているSDG（セコイソラリシネシロール ジグリコシド）の効率的な製造法を開発し、SDGを含有する新規食品素材を実用に供することである。

本発明のさらなる目的は、本発明の新規食品素材を配合した、女性ホルモン（主としてエストロゲン）の乱れからくる諸症状、たとえば更年期障害、骨粗鬆症、高脂血症、高血圧症、肥満、鬱、ほてりなどの予防および症状軽減に有効な健康食品も含む形態、ジャンルを問わない食品および飲料を提供することである。

20

本発明者らは、植物エストロゲンに着目し、さらに亜麻リグナンの生理作用について鋭意検討した結果、驚くべきことに亜麻リグナンに含まれるSDGが女性ホルモンの乱れから来る諸症状たとえば、更年期障害、骨粗鬆症、高血圧症、高脂血症、肥満症、鬱、ほてりなどに対して有効であることを見出した。

さらに、本発明者らは、亜麻種子等に含まれるリグナン化合物SDGを効率よく、しかも高収率で製造する方法を開発した。本発明においては、SDGを含む植物材料、例えば亜麻種子またはその脱脂残渣を、塩基性アルコールで抽出する。本発明によれば、驚くべきことに、塩基性アルコールにより抽出と加水分解を同時に行っても、高収率でリグナン化合物SDGが回収でき、更に原料由来のアミノ酸を合わせて回収することができることが判明した。

30

従来、抽出と加水分解を別途行う方法では、両工程の間に濃縮工程も必要であり、事実上3工程が必要であった。これに対して、本発明の方法は1工程でリグナン化合物の抽出が可能であり、SDGの製造が非常に効率化される。

発明を実施するための最良の形態

本発明における有効成分であるSDGの製造原料としては、リグナン、特にSDGを含有する天然物であれば使用することができる。例えばリグナンは、オーツ麦、コーン、ライ麦、蕎麦、小麦などの全粒穀物中に2~8mg/kgで含まれている。亜麻種子には、全粒穀物の100倍にも相当する800mg/Kgのリグナンが含有されていると報告されており、SDGの製造原料として特に好ましい。

また、SDGの製造原料としては、亜麻種子を破碎した後、ヘキサンなど、食品の製造に利用できる溶剤で抽出脱脂したものを利用できるが、より望ましくは工業的に亜麻種子から油をヘキサン抽出した残さ、脱脂亜麻粕を用いるのが適当である。この脱脂亜麻粕は通常廃棄されるか家畜の飼料用に用いられており、食品には有効利用されていなかった。

40

脱脂亜麻粕からのSDGの製法に関しては、二つの留意点がある。一つは亜麻種子に含まれる粘性ムコ多糖の存在、もう一つはリグナン化合物の糖鎖による高分子化である。これらを考慮して開発したSDGの効率的製造法は、分解と同時に抽出するものである。

まず、溶媒に関しては通常植物原料を抽出するのに使われるものが利用可能となるが、特に食品原料として利用可能な溶媒が望ましい。最も適当なのは、食品用のアルコールであり、例えば、メタノール、エタノール、プロパノール、イソプロパノール、ブタノールである。抽出に使用するアルコールは、粘性ムコ多糖が抽出されない濃度にする必要がある。

50

、30から100% (v/v) の濃度が望ましいが、例えば50% (v/v) アルコールで抽出することができる。

さらに、上述の濃度では抽出できないSDGをアルカリ条件下に抽出することで糖鎖を加水分解し未抽出SDGを抽出させることにより抽出効率を高めることが可能となる。

このことから、アルカリ条件による加水分解と抽出を併せる方法として、本発明の塩基性アルコール抽出法は、目的成分の回収量を高めると同時に工程を簡素化できることから工業的に大きなメリットを有する方法である。また、塩基性アルコールによる抽出法により、亜麻種子に含まれるたん白質がアミノ酸の形で従来法に比べ効率よく抽出される点からも、本発明の製法は有効である。

亜麻粕に対して用いる抽出液は亜麻粕に対して1から20倍量が適当であるが、バッチ処理に対して循環型の抽出装置ならばより少量の抽出液量で済むことになる。

塩基性アルコール抽出工程に用いるアルカリは、食品製造に利用できるものなら特にその種類は選ばないが、例えば、NaOHを用いることができる。

添加するNaOHの濃度としては、処理する亜麻粕の量に依存するが、0.05から2NのNaOH、より好ましくは0.1から0.2Nである。

塩基性アルコールによる抽出に関しては、通常のアアルコール抽出よりも短時間で行なうことができ、室温で行なう場合には30分ないし3時間、典型的には約1時間で抽出が完了する。抽出温度は、通常抽出装置ならばアルコールの沸点以下が望ましく、例えば室温から70度までの温度が望ましい。加圧可能な抽出装置を利用すれば、より高温での処理も可能となる。

抽出物は、最終的に中和する必要がある。この中和には酸を用いるが、望ましくは食品製造に用いることが出来る酸、たとえば酢酸、塩酸などが良い。添加する酸の量は、抽出物を中和するのに必要な量である。

塩基性アルコール抽出された段階の本発明のSDG高含有物は、SDGは原料から1ないし2%回収される。さらに、アミノ酸として、疲労回復、体力増強などが期待できるとされるグルタミン酸、筋肉に取り込まれて直接エネルギー源となると考えられているバリン、イソロイシン、ロイシン等を、従来の方法で抽出したSDG高含有物に比べて約8~10倍も多く含んでいる。従って本SDG含有組成物をそのままあるいは飲食物の形態に加工あるいは飲食物に添加して摂取した場合にはSDGの効果に加え、疲労回復、体力増強などの効果も得られる。このSDG高含有物には、シアン配糖体はほとんど含まれていないので、脱塩してそのまま食品素材として用いることが可能である。さらに純度アップを目的として精製工程でより高含有の食品素材にすることも可能である。精製方法としては、食品製造に適する方法であればその手段を選ばないが、例えば、活性炭あるいは、シリカゲル、逆相系樹脂(ODS)、およびスチレンジビニルベンゼン系吸着樹脂(ダイアイオンHP20、三菱化学製)、あるいは、樹脂を用いない方法として、CPC法(遠心液々分離法)、結晶化法、あるいは溶媒に対する溶解性の違いを利用した分画法などを利用することができる。

目的に応じて、用いる条件により、SDGの含有量は固形分当たり10%から90%以上にまで高めることが可能である。特に高純度のサンプルの調製にはODSを用いた分取用HPLCカラムクロマトグラフィーを繰り返すことにより得ることが可能である。

亜麻種子には粘性物質が含有されることから食品・飲料への配合は困難であったが、本発明の製法によれば、この粘性物質を分解することにより、健康維持に有効なリグナン化合物としてSDGを食品・飲料に配合することが可能となった。

得られたSDG高含有物は通常の減圧濃縮法、あるいは、スプレードライ法、凍結乾燥法などにより乾燥し、好ましくは粉末物にすることができる。

したがって、本発明は、本発明の方法により抽出される新規SDG高含有食品素材も提供する。本発明により得られたSDG高含有食品素材は、SDGが40重量%までは無色、無臭、無味であり、水に対する溶解性が大きいので、単独でも粉末食品として、または、きな粉などの粉末食品に混入して食することも可能であり、あるいは食品素材として添加するものとして種々の食品や飲料の製造のために使用することもできる。

10

20

30

40

50

本発明は更に、SDGを配合することにより、容易に摂取すべき量のSDGを摂取することができる、経口摂取用組成物を提供する。

SDGを配合した本発明の食品・飲料は、女性ホルモン、特にエストロジェンの乱れからくる諸症状の予防や軽減のために、特に適することが見出された。本発明のSDG含有食品は、SDGとして1日当たり1mgから1000mg、より望ましくは5mgから500mg、特に望ましくは10から250mg摂取されるよう食品に配合するよう設定できる。SDG配合量は食品の利用目的により選択され、毎日継続摂取可能な形態の食品に利用する場合には、例えば10mgから90mgで良い。一方、より保健的な用途を望む場合には、例えば500mgまでの配合も可能となる。

粉末食品あるいはタブレットなどの水分含量が低い食品形態、あるいはそのものの摂取量が少ない場合、SDG配合割合は高めに設定される。用途に応じた摂取量の違いを考慮してSDGを重量あたり例えば0.1%から90%含有するものを調整した食品の開発が可能となる。

また、飲料、レトルト食品等をはじめとする水分含量が多くそのもの自体の摂取量が多い場合にはSDG含量をそれに応じて減らすことができ、重量あたり例えば0.001%から10%までの配合が望ましい。

本発明のSDG高含有物は、一般食品の他、機能性食品、栄養補助食品等の原材料に使用することができる。例としてパン、ビスケット、シリアルバーなどの固形状の食品や、ジュース、スープなどの液状の食品が挙げられる。機能性食品の場合、粉末、顆粒、タブレット、ソフトカプセル、ハードカプセル、内服液、シロップ等の加工形態が挙げられる。これらは、通常使用される方法により製造することができる。

またタブレットを製造する場合であれば、賦形剤としてセルロース、乳糖、デキストリン、粉糖、コーンスターチ、還元麦芽糖、ショ糖脂肪酸エステルなど一般的に使用されているものがいずれも使用できるが、これらに限られるものではない。防湿等のためセラック、カルバナロウ、砂糖などを用いることもあるが、適切にコーティングできるものであれば特に制限はない。その他、他の機能性成分としては抗酸化作用を有する素材、例えばビタミンE、ポリフェノール、カルシウム等のミネラルを配合してもよい。

さらに、水に対する溶解性が高いこと、味、香りともに配合に大きな影響をもたらさないことから保健の目的を持った飲料にも利用可能となる。味付けとしてはお茶や清涼飲料、ドリンク剤（粉末ドリンクも含む）などの種々の形態が採用可能となる。通常の飲料形態の場合、0.01mg/mlから10mg/mlの推奨配合量が設定できる。さらに濃縮タイプの飲料の場合には、上限の配合量は濃縮度に応じて高めれば良いことになる。

これまでSDGとイソフラボンの有効性に関する比較については十分なデータが存在しない。これらの活性比較試験を実施し、SDGがイソフラボンと同等あるいはそれ以上の効能を有すること、および、両者を組合せた場合により大きな効果がもたらされることが明らかとなった。SDGとイソフラボンを組み合わせた食品は、本発明によりはじめて提供されるものであり、女性ホルモンの乱れからくる諸症状、たとえば更年期障害、骨粗鬆症、高脂血症、高血圧症、肥満、鬱、ほてりなどに非常に有効な食品および飲料を提供することが可能である。

イソフラボンの配合量は1日当たり例えば10～90mg摂取できるように配合される。

実施例

以下、本発明に関して、実施例を示して更に説明する。

実施例 1

抽出法

市販の亜麻粕を原料とし、亜麻粕1kgを10Lの50%エチルアルコールに懸濁後、4NのNaOHを400ml添加した。攪拌しながら温度を50℃に上げ、1時間抽出した。酢酸を用いて中和後、ろ過し、減圧下濃縮することにより塩基性アルコール抽出物242gを得た（組成物1）。

比較のために、NaOHを添加なしに抽出したものを調製した、すなわち亜麻粕100gを50%エチルアルコール1Lで50℃、4時間抽出後、抽出物をろ過し、4NのNaO

10

20

30

40

50

Hを40ml添加後4時間50℃で分解処理した。これを中和後、減圧下濃縮し、11.1gの抽出物を得た(組成物2)。

実施例2

SDG分析法、結果

上記組成物1、2に関してSDGの抽出量をHPLC分析により比較した。

分析方法は、ODSカラム(Deverosil 5HG-3、4、6x50mm、野村化学社製)を用い、0.1%TFA(トリフルオロ酢酸)存在下、流速1ml/min、8分間で10%から80%にアセトニトリル濃度を増加させるグラディエント条件にて分析を行った。モニターは280nmの波長にてUV検出器にて行い、ピーク高をもとに定量分析した。

サンプルは水に溶解して測定を行った。

結果を表1に示す。

SDGは、本分析条件において、3.8分のリテンションタイムに現れるピークとして検出可能である。

アルコール抽出した組成物2に比べ、塩基性アルコール抽出した組成物2では、約2割収率が高いことが確認された。

表1 塩基性アルコール抽出法による回収率の上昇

| | 原料 | 回収固形物 | SDG 含量 |
|-------------|------|-------|--------|
| 塩基性アルコール抽出法 | 1Kg | 242g | 15g |
| アルコール抽出法 | 100g | 11.1g | 1.3g |

実施例3

アミノ酸分析法、結果

亜麻種子にはたん白質が多く含有されていることが知られているが、アルコール濃度を高めると抽出しにくいことが予想された。そこで、塩基性アルコール処理によりアミノ酸含有量が高められるかどうかを検討するために、アミノ酸分析を行った。分析は、日立アミノ酸分析システムL8800形高速アミノ酸分析計により、アミノ酸(OPA法)分析システムを用いて行った。

結果を表2に示す。塩基性アルコール抽出した新規製法により、従来法では少量しか抽出されていなかったアミノ酸、特に疲労回復、体力増強などが期待できるとされるグルタミン酸の抽出率が8.1倍上昇するとともに、筋肉に取り込まれて直接エネルギー源になると考えられているバリン、ロイシン、イソロイシンなどのアミノ酸含量が約8~11倍に上昇したことから、本発明の製法により、こうした有効成分が効率的に回収できることが確認され、本発明の製法の有効性が確認された。

表2 塩基性アルコール抽出法による

アミノ酸回収率の上昇

| | 1g 亜麻粕あたりのアミノ酸抽出量 (mg) | | | |
|-------------|------------------------|------|--------|------|
| | グルタミン酸 | バリン | イソロイシン | ロイシン |
| 塩基性アルコール抽出法 | 22 | 38 | 33 | 47 |
| アルコール抽出法 | 2.7 | 3.6 | 4.2 | 4.3 |
| 比較 (倍率) | 8.1 | 10.6 | 7.9 | 10.9 |

実施例4

HP20精製

実施例1で得られた組成物1の242g(SDG15g含有)を水2Lに溶解し、これをダイアイオンHP20(8cmφx60cmカラム)に負荷した。8Lの水で洗浄後、4

10

20

30

40

50

0 % エタノール (v / v) 5 L で溶出した。溶出は流速 1 v v m で実施した。得られた分画物 (組成物 3) は、39 g、SDG 含量 14.3 g となった。

組成物 3 と同様に実施例 1 と上述の作業で繰り返し分取して得た 95 g (SDG 36.6 g 含有) を水 500 ml に溶解し、これをダイアイオン HP20 (8 cm φ x 40 cm カラム) に負荷した。水で洗浄後、10 %、15 %、20 %、40 % エタノール (v / v) 5 L ずつでステップワイズ溶出した。溶出は流速 1 v v m で実施した。

分画結果を表 3 に示す。SDG は、10 % エタノールではほとんど溶出されなかった。引き続き 15 %、20 % エタノールで溶出した結果、SDG 14.1 g、16.6 g が回収された。純度はそれぞれ 74.2 %、91.0 % となった。さらに、40 % エタノールで溶出した結果、SDG 2.9 g が回収され、純度は 11.8 % であった。また、これ以上

10

エタノール濃度を上昇させても SDG は溶出されなかった。この結果から、HP20 を用い、純度の高い SDG を調製することが可能となった。例えば、アルコール濃度 15 % 以上で溶出するのが好ましい。

なお、今回の 20 % エタノール溶出画分 (組成物 4) を、効能試験に供した。

表 3 HP20 による分画のまとめ

| 溶出アルコール濃度 | 固形物 (g) | SDG (g) | SDG 含有率 (%) |
|-----------|---------|---------|-------------|
| 10% エタノール | 18 | 1.1 | 6.1 |
| 15% エタノール | 19 | 14.1 | 74.2 |
| 20% エタノール | 18.25 | 16.6 | 91.0 |
| 40% エタノール | 24.5 | 2.9 | 11.8 |
| 合計 | 79.75 | 34.7 | 43.5 |

20

実施例 5

効能 1：脂質、骨への効果とイソフラボンとの併用効果

更年期モデル動物を用いたエストロゲン様作用に関する試験

閉経後はエストロゲンの低下に伴う破骨細胞の活性化によって骨量が低下し、骨粗鬆症様の症状が起こることが知られている。また、エストロゲンの低下に伴って脂質代謝のバランスが崩れ、高脂血症や高コレステロール血症などの症状が生じやすい。雌ラットの卵巣を摘出するとエストロゲンレベルが低下して上記のような症状を呈するため、更年期障害のモデル動物として汎用される。SDG がエストロゲンの低下を補うことによってこれらの更年期障害を抑制する効果を確認するため、卵巣摘出ラットを用いた実験を行なった。卵巣摘出による骨粗鬆症モデルラットの作製：

30

Wistar 系ラット (日本チャールズリバー)、♀、34 匹に 6 週齢で卵巣摘出手術 (OVX)、同週齢の 9 匹に疑似手術 (Sham) を施し、ラット用一般飼料 CE-2 (日本クレア) にて飼育した。2 週間後、卵巣摘出ラットを 4 群 (n = 8 ~ 9) に分け、それぞれ I ~ IV 群とした。陽性対象として、疑似手術を施した卵巣非摘出群 (V 群、n = 9) を設けた。

卵巣摘出ラットの飼育：

飼料は、AIN-93M 配合 Ca 無添加精製飼料 (オリエンタル酵母工業製) を基本飼料として、I 群および V 群に 4 週間自由摂取させた。II 群には大豆イソフラボン、III 群には組成物 4 (SDG 91 % 含有)、IV 群には大豆イソフラボン (80 % 含有) および組成物 4 を基本飼料にそれぞれ 0.1 % 添加した飼料を摂取させた。飼育終了日にラットの体重を測定した後、解剖して採血および右脚大腿骨の摘出を行なった。

40

骨量低下抑制効果の判定：

ラットの右脚から摘出した大腿骨は、付着した組織片を取り除いた後、100℃で 24 時間乾燥して重量を測定した。その結果、I 群のラットの体重 100 g あたりの大腿骨重量は、V 群と比較して著しい低下が見られたが、II 群、III 群、IV 群では I 群と比較して骨重量の低下を抑制する傾向が見られた (表 4)。

表4 卵巣摘出ラットの骨重量

| | 大腿骨乾燥重量(mg) (体重 100g あたり) | |
|-------|------------------------------|-----|
| I 群 | 87.9± | 1.3 |
| II 群 | 89.5± | 1.8 |
| III 群 | 90.9± | 2.7 |
| IV 群 | 93.1± | 2.6 |
| V 群 | 112.8± | 1.4 |

10

脂質代謝改善効果の判定：

ラットの血液から血漿を分離して、自動分析装置（日立）にてトリグリセリドを測定した。I 群で見られた著しいトリグリセリド値の上昇に対して、II 群では抑制傾向、III 群およびIV 群では有意な抑制効果が見られた（表5）。

表5 卵巣摘出ラットの血中トリグリセリド値

| | 血中トリグリセリド (mg/dl) | |
|-------|----------------------|--------|
| I 群 | 50.3± | 7.5 |
| II 群 | 38.6± | 3.5 |
| III 群 | 32.0± | 3.2 * |
| IV 群 | 28.9± | 3.1 ** |
| V 群 | 24.7± | 1.9 ** |

20

(*)P<0.05,
(**)P<0.01vs I 群)

上記の試験例から、SDGは脂質および骨に対する効果を有し、また、イソフラボンと組み合わせることによりその作用が増加することが示され、両者を併用利用することが有効であることが示された。

30

実施例 6

効能2：抗肥満効果

7週齢の雌性Wister系ラットを卵巣摘出し、サンプルを1日1回金属製胃ゾンデを用いて強制経口投与した。投与期間は術後14日間とした。各群のn数は8匹とした。体重を測定し、閉経後の食欲促進による肥満に対する効果を調べた。サンプルは、陽性対照として17βエストラジオール、また、比較サンプルとしては大豆イソフラボンの主要化合物であるゲニステインを用いた。また、SDGは組成物4を用いた。

結果を図2に示す。体重の変化は、SDG 50mg/Kg、17βエストラジオール（0.02mg/kg）およびゲニステイン100mg/Kg摂取において体重増加が抑制された。

40

実施例 7

効能3：ほてりの改善とイソフラボンとの相乗効果

更年期モデル動物を用いた試験

閉経後のエストロゲンの急激な低下によってホルモンのバランスが崩れ、自律神経の乱れが生じることによってほてりなどの血管運動障害様の症状が現れる。実験動物においては、雌ラットの卵巣摘出によって尾部皮膚温度が上昇し、更年期障害のほてりに相当する症状が観察される。卵巣摘出ラットにSDGおよび大豆イソフラボンを摂取させ、尾部皮膚温度を測定した。

卵巣摘出による骨粗鬆症モデルラットの作製：

50

Wistar系ラット（日本チャールズリバー）、♀、41匹に6週齢で卵巢摘出手術、同週齢の9匹に擬似手術を施し、ラット用一般試料CE-2（日本クレア）にて飼育した。1週間後、卵巢摘出ラットを5群（ $n=7\sim9$ ）に分け、それぞれI～V群とした。陽性対象として、擬似手術を施した卵巢非摘出群（ $n=9$ ）を設けた。

卵巢摘出ラットの飼育：

飼料は、AIN-93M配合Ca無添加精製飼料（オリエンタル酵母工業製）を基本飼料として、I群、V群および卵巢非摘出群に4週間自由に摂取させた。II群には大豆イソフラボン、III群にはSDG（組成物4）、IV群には大豆イソフラボンおよびSDGを基本飼料にそれぞれ0.1%添加した飼料を摂取させた。V群には試験飼料摂取期間中、17βエストラジオールを $1\mu\text{g}/\text{day}$ となるように皮下投与した。飼育期間中にラットの尾部皮膚温度を微小精密温度計BAT-12R（Physitemp製）によって測定した。卵巢摘出によってラットの尾部皮膚温度は上昇するが、イソフラボンおよびSDG摂取によって上昇が抑制された。この作用は両者の併用によって更に顕著となり、両者を併用利用することが有効であることが示された（図3）。

効能4：子宮重量に対するSDGとイソフラボンの影響

実施例7において、試験終了時にラットを剖検し、子宮重量を測定した。卵巢摘出によって子宮は萎縮し重量が低下するが、17βエストラジオールを投与したV群の子宮は萎縮が見られず、重量は卵巢非摘出群と同程度であった。これに対してII群～IV群はI群と同程度で、子宮の萎縮を抑制する作用が見られなかった。

表6 卵巢摘出ラットの子宮重量

| 子宮重量 (mg) | |
|-----------|------------------|
| I 群 | 93.7 ± 3.9 |
| II 群 | 95.1 ± 6.4 |
| III 群 | 105.5 ± 6.8 |
| IV 群 | 100.7 ± 4.3 |
| V 群 | 443.9 ± 28.8 *** |
| 卵巢非摘出群 | 524.3 ± 71.4 *** |

*** $P < 0.001$ vs I 群

実施例8

効能5：更年期女性の不定愁訴改善効果

組成物4を3.3重量%、大豆イソフラボンを6.7重量%、ビタミンEを0.5重量%含有するタブレットを定法により製造し、試験用タブレットとした。閉経に伴う更年期特有の不定愁訴を訴える女性33名に試験用タブレットを1日あたり3粒（約600mg）ずつ4週間摂取してもらい、Kupperman更年期指数に準じて各症状の変化をアンケート調査した。アンケート結果を集計した結果、眩暈、頭痛、憂鬱感、疲労感、関節痛、筋肉痛が有意に改善し、ほてり、冷えなどの血管運動神経障害様症状は改善傾向が見られた。また、各モニターの簡易更年期指数（SMI）は、摂取前期間と比較して有意に低下した（図4）。

実施例9

SDGを含有するタブレットの調製

表7に示した配合でそれぞれの粉体をミキサーで均一に混合し、打錠機を用いて1粒200mgのタブレットを打錠した。次にコーティングパン上でセラックを噴霧、乾燥させて、タブレットを製造した。

表 7

| | レシピ1 | レシピ2 | レシピ3 |
|---------------------|------------|------------|------------|
| 成分 | 配合量 (%) | 配合量 (%) | 配合量 (%) |
| 抽出物3 | 30 | 8 | 15 |
| 大豆イソフラボン (30%含有) | | 22 | 15 |
| ビタミンE | 9 | | 5 |
| 乳糖 | 18 | 25 | 25 |
| セルロース | 5 | 34 | 29 |
| 還元麦芽糖 | 15 | | |
| カルシウム | 14 | 8 | 8 |
| コーンスターチ | 5 | | |
| ショ糖脂肪酸エステル | 4 | 3 | 3 |
| 合計 | 100 | 100 | 100 |

10

実施例 10

SDGを含有するパンの調製

本発明のSDG 40%含有抽出物1gをドライイースト3g、小麦粉500g、砂糖50g、卵1個、塩2g、水300mlと共にボウルに入れて、混ぜてよくこねた。15分間発酵させた後、ガス抜きをして、さらに15分間発酵させた。ガス抜きをして、20等分して丸く成形した。サラダ油を薄くぬったオープン皿に並べて1時間2次発酵させた後、180度に熱したオーブンで20分間焼いて、パンを製造した。

20

実施例 11

飲料

20Lの飲料水に、クエン酸ナトリウム1g、グルコース200g、SDG 80%含有抽出物1gを添加し溶解させた後、クエン酸にてpH4.0に調整後、シトラス香料を添加し、120mlの褐色ビンに詰めて飲料を製造した。

30

産業上の利用可能性

本発明によれば、女性ホルモン様活性を有するエンテロラクトン、およびエンテロジオールなどの前駆体となることが知られているSDG（セコイソラリシネシロール ジグリコシド）を高含有する新規食品素材およびこれを配合した種々の形態の飲食品の製造が可能となる。

こうしたSDG含有飲食品、特にSDGとイソフラボンとを含有する飲食品は、女性ホルモンの乱れからくる諸症状、たとえば更年期障害、骨粗鬆症、高脂血症、高血圧症、肥満、鬱、ほてりなどの諸症状を改善できること、あるいは美容効果が期待できる点で、その開発により健康に関する大きな恩恵をもたらすことが期待できる。

【図面の簡単な説明】

40

図1は、SDGの構造式を示す。

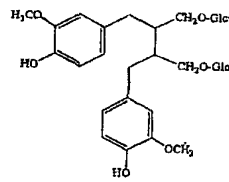
図2は、抗肥満効果試験における体重の変化を示す。

図3は、ほてりの改善とイソフラボンとの併用効果を示す。

図4は、更年期障女性の不定愁訴改善効果を示す。

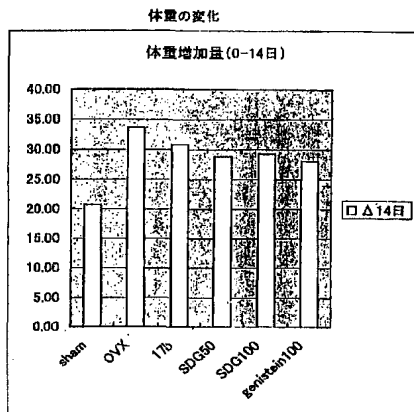
【図1】

図1



【図2】

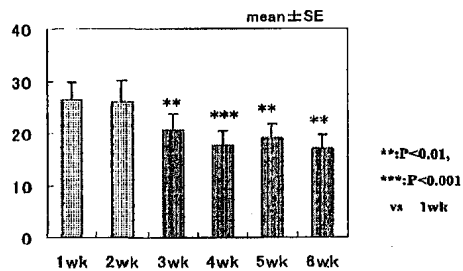
図2



【図4】

図4

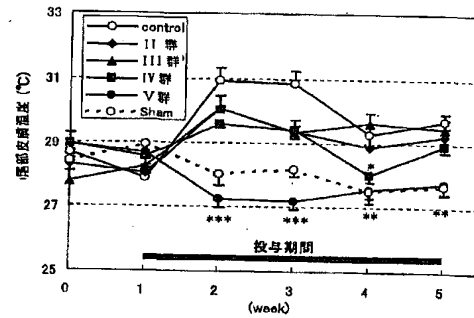
簡易更年期指数(SMI)の推移



【図3】

図3

更年期モデルラットの尾部皮膚温度の推移



*:P<0.05 vs control, **:P<0.01 vs control, ***:P<0.001 vs control

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/02850

| A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER Int.Cl ⁷ A23L1/30 | | | | | | | | | | | |
|---|--|---|-----------|--|-----------------------|---------------|---|--------------------|---|--|-------|
| According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC | | | | | | | | | | | |
| B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) Int.Cl ⁷ A23L1/30, A23L1/308, A61K31/352, A61K31/7032, A61K35/78 | | | | | | | | | | | |
| Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched | | | | | | | | | | | |
| Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) JICST FILE (JOIS) | | | | | | | | | | | |
| C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <table border="1"> <thead> <tr> <th>Category*</th> <th>Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th>Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><u>X</u> A</td> <td>JP 9-208461 A (The Nisshin Oil Mills, Ltd.), 12 August, 1997 (12.08.97), (Family: none)</td> <td><u>7-11</u> 1-6</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>EP 906761 A2 (ARCHER-DANIELS MIDLAND CO.), 07 April, 1999 (07.04.99), & JP 11-221048 A & BR 9805069 A & US 6261565 B1</td> <td>12-24</td> </tr> </tbody> </table> | | | Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. | <u>X</u> A | JP 9-208461 A (The Nisshin Oil Mills, Ltd.), 12 August, 1997 (12.08.97), (Family: none) | <u>7-11</u> 1-6 | X | EP 906761 A2 (ARCHER-DANIELS MIDLAND CO.), 07 April, 1999 (07.04.99), & JP 11-221048 A & BR 9805069 A & US 6261565 B1 | 12-24 |
| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. | | | | | | | | | |
| <u>X</u> A | JP 9-208461 A (The Nisshin Oil Mills, Ltd.), 12 August, 1997 (12.08.97), (Family: none) | <u>7-11</u> 1-6 | | | | | | | | | |
| X | EP 906761 A2 (ARCHER-DANIELS MIDLAND CO.), 07 April, 1999 (07.04.99), & JP 11-221048 A & BR 9805069 A & US 6261565 B1 | 12-24 | | | | | | | | | |
| <input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex. | | | | | | | | | | | |
| * Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family | | | | | | | | | | | |
| Date of the actual completion of the international search 09 May, 2003 (09.05.03) | | Date of mailing of the international search report 27 May, 2003 (27.05.03) | | | | | | | | | |
| Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office | | Authorized officer | | | | | | | | | |
| Facsimile No. | | Telephone No. | | | | | | | | | |

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1998)

| | | | |
|---|--|---|--|
| 国際調査報告 | | 国際出願番号 PCT/JP03/02850 | |
| A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl ¹ A23L1/30 | | | |
| B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl ¹ A23L1/30, A23L1/308, A61K31/352, A61K31/7032, A61K35/78 | | | |
| 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの | | | |
| 国際調査で使った電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) JICSTファイル (JOIS) | | | |
| C. 関連すると認められる文献 | | | |
| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 | |
| X A | JP 9-208461 A (日清製油株式会社) 1997.08.12 (ファミリーなし) | 7-11 1-6 | |
| X | EP 906761 A2 (ARCHER-DANIELS MIDLAND CO) 1999.04.07 & JP 11-221048 A & BR 9805069 A & US 6261565 B1 | 12-24 | |
| <input type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。 | | | |
| * 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願 | | | |
| 国際調査を完了した日 09.05.03 | | 国際調査報告の発送日 27.05.03 | |
| 国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号 | | 特許庁審査官 (権限のある職員) 鈴木 恵理子 電話番号 03-3581-1101 内線 3448 | |

フロントページの続き

| | | |
|--------------------------|-----------------|-------|
| (51)Int.Cl. ⁷ | F I | |
| A 6 1 K 9/14 | A 6 1 K 9/14 | |
| A 6 1 K 9/16 | A 6 1 K 9/16 | |
| A 6 1 K 9/20 | A 6 1 K 9/20 | |
| A 6 1 K 9/48 | A 6 1 K 9/48 | |
| A 6 1 K 31/366 | A 6 1 K 31/366 | |
| A 6 1 K 31/7032 | A 6 1 K 31/7032 | |
| A 6 1 P 3/04 | A 6 1 P 3/04 | |
| A 6 1 P 3/06 | A 6 1 P 3/06 | |
| A 6 1 P 5/30 | A 6 1 P 5/30 | |
| A 6 1 P 9/12 | A 6 1 P 9/12 | |
| A 6 1 P 15/12 | A 6 1 P 15/12 | |
| A 6 1 P 19/10 | A 6 1 P 19/10 | |
| A 6 1 P 25/24 | A 6 1 P 25/24 | |
| A 6 1 P 43/00 | A 6 1 P 43/00 | 1 2 1 |
| | A 2 3 L 2/00 | F |

- (72)発明者 阿部 圭一
大阪府池田市井口堂 3-3-1-605
- (72)発明者 飯野 妙子
滋賀県大津市坂本 1-24-12
- (72)発明者 藤居 互
大阪府茨木市西中条町 4-5-202
- (72)発明者 諏訪 芳秀
大阪府茨木市山手台 6-7-16

(注) この公表は、国際事務局 (W I P O) により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に係る日本語特許出願 (日本語実用新案登録出願) の国際公開の効果は、特許法第 184 条の 10 第 1 項 (実用新案法第 48 条の 13 第 2 項) により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。